

## بیان زیر واحد S100A8 نو ترکیب و اثر کلسیم بر ساختار سوم آن

فاطمه نعمتی نیکو\*

دکتر نعمت‌اله غیبی\*\*

دکتر کوروش گودرزوند چگینی\*\*\*

\* کارشناس ارشد زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی تهران  
 \*\* دانشیار بیوفیزیک مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین  
 \*\*\* استادیار بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، گروه بیوشیمی، تلفن ۰۲۸-۳۳۳۳۳۶۰۰-۱-۶  
 Email: kgvand@ymail.com

تاریخ پذیرش: ۹۳/۲/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۲۱

### \*چکیده

**زمینه:** S100A8 به عنوان یکی از زیر واحدهای سازنده هتروداایمر کالپروتکتین در بسیاری از فرآیندهای وابسته به التهاب و سرطان ایفای نقش می‌کند.

**هدف:** مطالعه به منظور تولید S100A8 به صورت نو ترکیب و تعیین اثر کلسیم بر ساختار سوم آن انجام شد.  
**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. ابتدا زیر واحد S100A8 در پلاسمید pET15b نو ترکیب و میزبان E. Coli BL21 (DE3) به صورت پروتئین دارای his-tag بیان شد. فرآیند تخلیص پروتئین در دو حالت محلول و نامحلول، با استفاده از ستون نیکل و غلظت‌های مختلف ایمیدازول انجام شد. بیان و خلوص پروتئین نو ترکیب از طریق الکتروفورز SDS-PAGE ارزیابی شد. ساختار سوم S100A8 با استفاده از روش طیف سنجی فلورسانس، در حضور و عدم حضور کلسیم بررسی گردید.  
**یافته‌ها:** در حالت نامحلول بیش‌ترین پروتئین S100A8 با وزن مولکولی ۸ کیلودالتون بیان شد. در فرآیند تخلیص، خالص‌ترین پروتئین محلول با استفاده از غلظت‌های ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار ایمیدازول به دست آمد. در طول موج ۳۳۰ نانومتر، بیش‌ترین میزان نشر فلورسانس S100A8 در حضور و عدم حضور کلسیم مشاهده شد و شدت نشر در حضور غلظت‌های مختلف کلسیم کاهش یافت.  
**نتیجه‌گیری:** تغییر ساختار سوم زیر واحد S100A8 در حضور کلسیم، ممکن است عملکرد پروتئین را تحت تأثیر قرار داده و به درک نقش این پروتئین در فرآیندهای التهابی و سرطان کمک نماید.

**کلیدواژه‌ها:** طیف سنجی فلورسانس، کلسیم، پلی اکریل آمید ژل الکتروفورز، پلاسمیدها، پروتئین‌ها

### \*مقدمه:

هتروداایمر کالپروتکتین را ایجاد می‌کند.<sup>(۱)</sup> S100A8 نقش‌های زیر را دارد: ضد میکروبی، شبه سایتوکاینی، ضد تکثیر، رگ‌زایی، اتصال سلولی، تنظیم ایمنی، التهاب و شرکت‌کننده در فرآیند سرطان. مقادیر بالای S100A8 در روند التهاب وجود دارد و ارتباط بین التهاب و سرطان‌زایی نیز شناخته شده است. با وجود خواص ضد توموری S100A8 و احتمال استفاده از آن به عنوان ابزار درمانی سرطان، برخی پاسخ‌های آغازکننده تومور نیز توسط آن شناسایی شده‌اند.<sup>(۳،۲)</sup> تخلیص پروتئین

کالپروتکتین از خانواده S100 پروتئین‌ها به عنوان نشان‌گر التهابی و یک پروتئین متصل شونده به روی و کلسیم است که قسمت عمده آن روی غشای نوتروفیل، مونوسیت و ماکروفاژ است. از نظر ساختار یک هتروداایمر با دو جایگاه اتصال به کلسیم در هر زنجیره است. زنجیره سبک (۸ کیلودالتون با ۹۳ آمینواسید) با نام‌های MRP8/S100A8/P8/L1L شناسایی می‌شود. در حضور کلسیم، زنجیره سبک S100A8 توانایی اتصال غیر کووالان با زنجیره سنگین S100A9 را دارد و ساختار